

# Raf/MEK **デュアル阻害活性を有する抗悪性腫瘍剤** CH5126766 **の創製**

著者	青木 紀裕
号	48
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	薬第570号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/00121678">http://hdl.handle.net/10097/00121678</a>

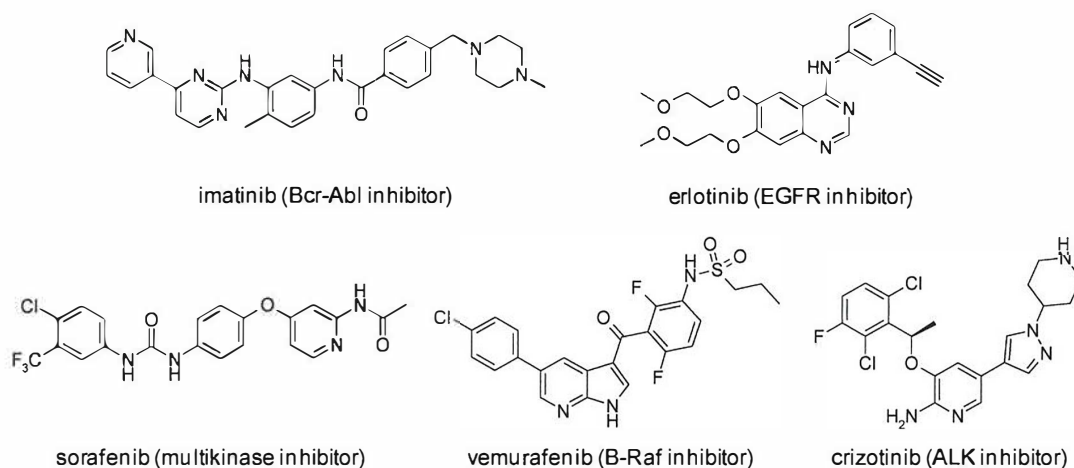
## 論文内容要旨

(題目) Raf/MEK デュアル阻害活性を有する  
抗悪性腫瘍剤 CH5126766 の創製  
(氏名) 青木 紀裕

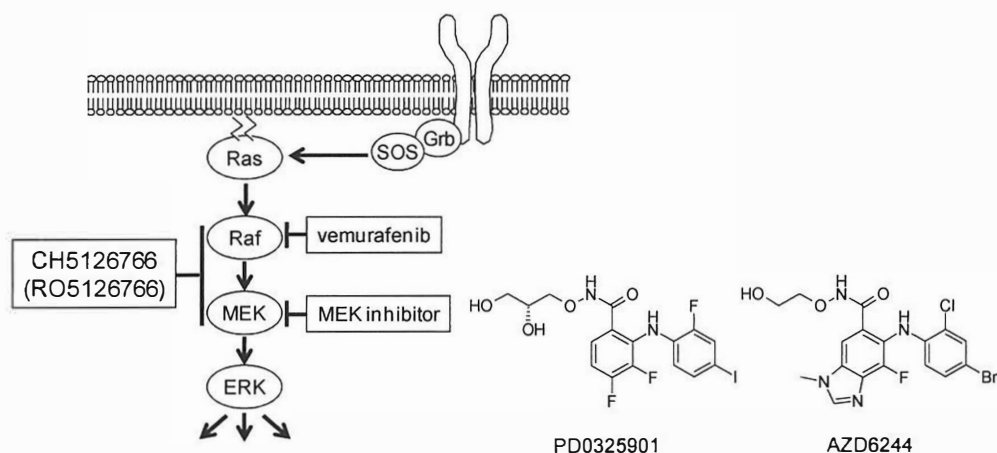
本論文は Raf 及び MEK を同時に阻害する新規キナーゼ阻害剤の創薬研究を記述したものである。本研究で見出された新規キナーゼ阻害剤 CH5126766 (RO5126766) は Raf 及び MEK を選択的に阻害し、顕著な抗腫瘍効果と優れた薬物動態を示した。既存の選択的 Raf 阻害剤もしくは MEK 阻害剤とは異なる作用機序を有し、両阻害剤において課題とされているシグナル経路の再活性化を誘起しないことから、既存薬の問題点を克服し得る新たながん治療薬として期待できる。

近年、キナーゼを標的とした分子標的薬を用いた薬物療法はがんの標準的治療法の一つとして確立されてきた。キナーゼは特定のタンパクをリン酸化することによりタンパクを活性化する酵素であり、細胞内のシグナル伝達に深く関与している。キナーゼ阻害剤として 2001 年にはじめて承認された慢性骨髄性白血病治療薬 imatinib (製品名: グリベック) は長期的な薬効と高い安全性により優れた抗腫瘍効果を示し、キナーゼ阻害剤の有効性を明らかにした。その後も erlotinib, sorafenib, vemurafenib, crizotinib に代表されるキナーゼ阻害剤ががんの標準療法として浸透し、現在も様々なキナーゼ阻害剤の臨床試験が行われている。

### Chart. FDA-approved kinase inhibitors



Ras/Raf/MEK/ERK シグナル経路 (MAPK シグナル経路)の各因子は薬物療法の標的の一つとして考えられてきた。多くのがんでこの経路の活性化が報告されており、この経路を遮断する薬剤は有用な抗がん剤となり得ると期待されている。そのため、この経路のキナーゼである MEK や Raf を選択的に阻害する化合物がこれまでに見出されてきた。PD0325901 や AZD6244 は選択的に MEK を阻害し、動物モデルで幅広いがん種に対して強い抗腫瘍効果を示した。しかしながら、ヒト臨床試験では悪性黒色腫 (メラノーマ)に対して有効性が認められた一方で、他のがん種では期待した抗腫瘍効果が得られなかった。MEK 阻害が起こると通常働いているネガティブフィードバックも抑制され、結果として MEK のリン酸化 (活性化)を誘起する。このフィードバックを介したシグナル経路の活性化が、MEK 阻害剤の薬効が乏しい要因の一つとして考えられている。また、選択的 Raf 阻害剤 vemurafenib は、臨床試験で B-Raf 変異性のメラノーマに対して高い有効性が確認され、2011 年に承認された。しかしながら、メラノーマ以外の複数のがん種で MAPK 経路を活性化し、二次がんを誘発することも報告されている。



**Figure.** Ras/Raf/MEK/ERK pathway and its inhibitors

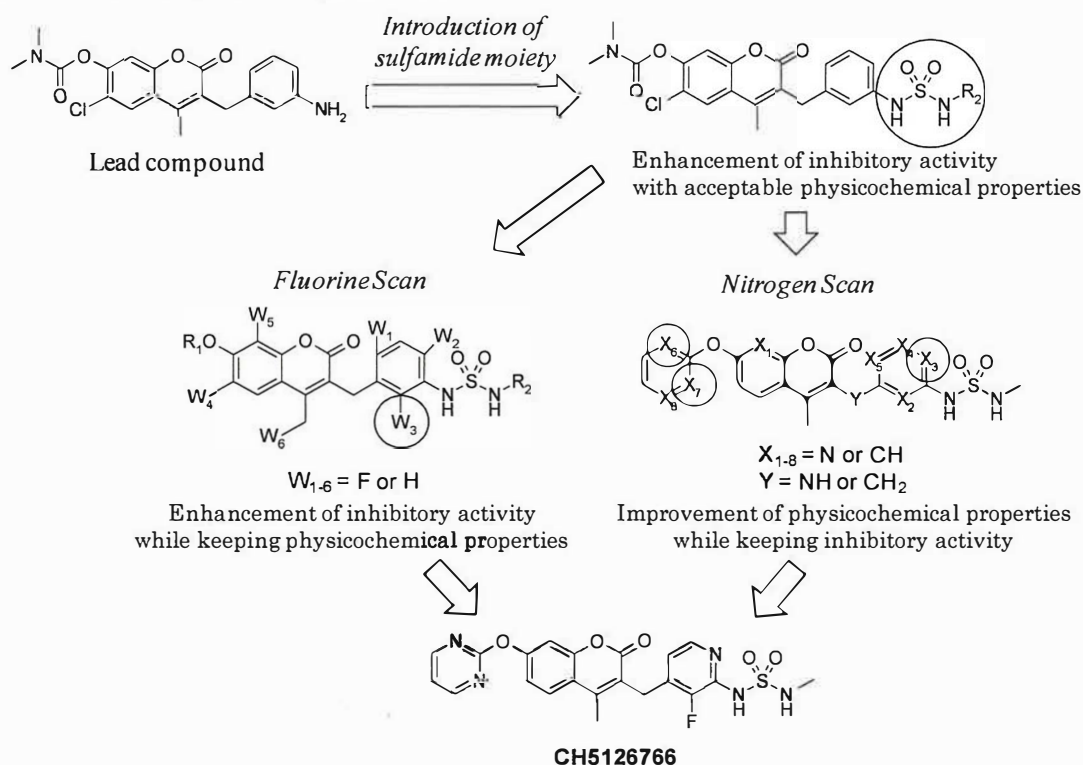
MEK 及び Raf 阻害剤の課題点が指摘されるなか、両阻害剤の併用が優れた効果を示すことが分かってきた。Raf 阻害剤、MEK 阻害剤単剤ではメラノーマに対して優れた効果を示す一方、他の多くのがん種、例えば大腸癌に対してはほとんど効果を示さないが、併用により大腸癌に対しても抗腫瘍効果が得られることが報告されている。また、併用による二次がんの抑制効果が動物モデルで報告され、近年臨床試験での効果も確認された。

以上の背景のもと、中外製薬の低分子化合物ライブラリーから Raf と MEK を同時に阻害する興味深い化合物が 2004 年に見出された。細胞内でのがん抑制タンパク p27<sup>Kip1</sup> の発現量の変化を検出す

るスクリーニングから、タンパク量を増加させるクマリン誘導体をヒット化合物として見出し、ヒット化合物の標的探索の結果、この化合物は Raf 及び MEK を直接阻害することが明らかとなった。著者はこのような作用機序を持つ化合物は既存の Raf 阻害剤や MEK 阻害剤の問題点を克服した薬剤になると考え、新規抗がん剤開発に向けてヒット化合物の活性向上・薬物動態プロファイルの改善を目的とした化学修飾を開始した。

本研究において、著者は Raf/MEK の阻害活性と物性プロファイルを指標としたリード化合物の構造最適化を行うことにより臨床化合物 CH5126766 を見出した。構造最適化の過程では基本骨格であるクマリン環を固定し、スルファミド基の導入、芳香環水素のフッ素原子による置換 (CH/CF 結合変換)、骨格内への窒素原子の導入 (CH/N 結合変換) の 3 つの化学修飾が鍵となり、Raf/MEK 阻害活性の向上と物性及び薬物動態プロファイルの改善を達成した。スルファミド基はスルホンアミドやアミド、ウレアのバイオアイソスター官能基として近年注目されている一方で、経口剤としての報告例は限られる。リード化合物にスルファミド基を導入することで Raf/MEK の阻害活性の向上を獲得し生理活性上の有用性を示すと共に、得られたスルファミド化合物の物性及び薬物動態を検証した。その結果、スルファミドはスルホンアミドと同等の物性を有し、薬剤として許容される官能基であるこ

**Scheme 1. Summary of lead optimization**

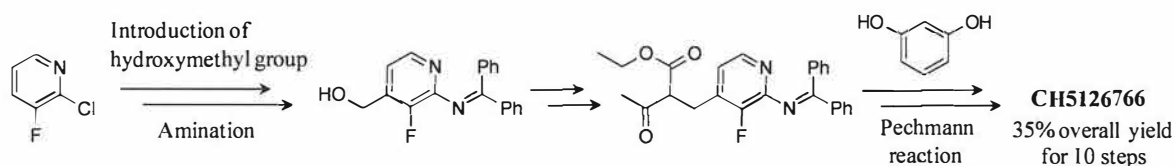


とが明らかとなった。CH/CF 結合変換はリード最適化手法の最も有効な手段の 1 つであり、活性・代謝安定性・膜透過性の向上例が多数報告されている。最適なフッ素化位置の探索するためには、リード化合物に対してランダムに多くの位置を CH/CF 結合変換させる手法（フッ素スキャン）が効果的であるが、通常その実施には多くの反応数が必要となる。こうした従来の手法に対し、リード化合物及びその中間体への非選択的 direct フッ素化を行うことで複数の位置にフッ素化された化合物を効率的に得ることに成功した。得られたフッ素化誘導体の溶解性・代謝安定性・膜透過性を包括的に検討し、リード化合物の物性を維持・向上させながら活性向上が得られるフッ素原子導入位置を特定した。CH/N 変換は、CH/CF 変換と同様リード化合物の立体構造変化を最小限に抑えながら、分子の電子的特性が大きく変化するため、物性及び薬物動態を改善する手法として効果的である。芳香環の CH/N 変換（窒素スキャン）を実施した結果、リード化合物の活性を維持しながら溶解度・代謝安定性・薬物動態を向上させる窒素原子導入位置を特定し、臨床化合物 CH5126766 を見出すに至った。

CH5126766 は高選択的に Raf 及び MEK を阻害し、強い細胞増殖抑制活性を示した。種々の動物種で優れた薬物動態プロファイルを有し、HCT116 (大腸癌) 腫瘍動物モデルでの薬効試験では、癌の縮小に至る強い薬効を示した。

続いて臨床化合物として特定した CH5126766 の大量合成に向けた初期検討として各工程の条件検討を行い、収率の向上・高い再現性・カラムクロマトグラフィーによる精製の回避・ $-78^{\circ}\text{C}$  での反応の回避を達成した。出発原料から 10 工程・総収率 35% で CH5126766 を合成し、再現性良く目的物が得られる合成ルートを確認した。

Scheme 2. Synthesis suitable for large quantities



本研究で見出された CH5126766 は、既存薬と異なる新規の作用機序を有し、MAPK シグナル経路の再活性化を誘起しない阻害剤であることが中外製薬の石井らの解析により示された。CH5126766 は既存の MEK 阻害剤、Raf 阻害剤の問題点を克服し得る第二世代の阻害剤として臨床試験が行われており、新しいがん治療薬として期待される。

論文提出者：青木 紀裕

論文審査委員（主査）：岩渕 好治

論文題目：Raf/MEK デュアル阻害活性を有する抗悪性腫瘍剤 CH5126766 の創製

近年、がんの治療法として、細胞内シグナル伝達を担うタンパク質リン酸化酵素（キナーゼ）を分子標的とした薬物療法の有効性が認められ、活発な創薬研究を触発している。2001 年に承認された慢性骨髄性白血病治療薬 imatinib（製品名：グリベック）を端緒として、erlotinib, sorafenib, vemurafenib, crizotinib に代表されるキナーゼ阻害剤ががんの標準療法として浸透し、現在も様々なキナーゼ阻害剤の臨床試験が行われている。

Ras/Raf/MEK/ERK シグナル経路（MAPK シグナル経路）に関与するキナーゼは、多くのがんで活性化されていることが知られ、この経路を遮断する薬剤は有用な抗がん剤となり得ると期待されている。これまで MEK や Raf を選択的に阻害する化合物が見出されてきたが、MEK 阻害剤ではヒト悪性黒色腫（メラノーマ）に対して有効性が認められた一方で、他のがん種では期待した抗腫瘍効果が認められず、選択的 Raf 阻害剤 vemurafenib ではメラノーマ以外の複数のがん種で MAPK 経路を活性化し、二次がんを誘発するなど、課題を残していた。

このような背景のもと、中外製薬の低分子化合物ライブラリーから Raf と MEK を同時に阻害するクマリン誘導体が見出された。本論文の著者は、本化合物をリード化合物と位置付けて、既存の Raf 阻害剤や MEK 阻害剤の問題点を克服した新規抗がん剤開発を目指す本研究に着手した。基本骨格であるクマリン環を固定し、スルファミド基の導入、芳香環水素のフッ素原子による置換（CH/CF 結合変換）、骨格内への窒素原子の導入（CH/N 結合変換）の 3 つの化学修飾を鍵として、構造最適化を検討した。スルファミド基はスルホンアミドやアミド、ウレアのバイオアイソスター官能基として近年注目されている一方で、経口剤としての報告例は限られていた。リード化合物にスルファミド基を導入してスルファミド化合物の物性及び薬物動態を検証した結果、スルファミドはスルホンアミドと同等の物性を有し、薬剤として許容される官能基であることを明らかとした。CH/CF 結合変換においては、リード化合物及びその中間体への非選択的 direct フッ素化を行うことで複数の位置にフッ素化された化合物を効率的に得ることに成功、これよりリード化合物の物性を維持・向上させながら活性向上が得られるフッ素原子導入位置を効率的に特定した。さらに CH/N 変換によって、リード化合物の活性を維持しながら溶解度・代謝安定性・薬物動態を向上させる窒素原子導入位置を特定し、臨床化合物 CH5126766 を見出すに至った。

本研究により創製された CH5126766 は MEK のアロステリック部位に結合し、MEK から ERK へのリン酸化を阻害する既知の MEK 阻害様式に加えて、Raf/MEK の複合体を安定化することにより Raf から MEK へのリン酸化を阻害する新規の Raf 阻害様式を有することが明らかとなった。また、既存の Raf 阻害剤で見られる MAPK シグナル経路の活性化を伴わない Raf 阻害であることが示された。これらの結果から、CH5126766 は既存薬と異なる新規の作用機序を有し、既存の MEK 阻害剤、Raf 阻害剤の問題点を克服し得る第新しいがん治療薬として期待される。よって、本論文は博士（薬学）の学位論文として合格と認める。